

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Salah satu penyakit yang banyak menyebabkan kematian di dunia adalah kanker. Pada tahun 2012, angka kematian yang disebabkan oleh kanker mencapai 8,2 juta orang. Jenis kanker yang menyebabkan kematian terbesar adalah kanker hati, paru, perut, kolorektal, dan payudara. Kanker payudara menempati urutan pertama dalam menyebabkan kematian pada perempuan (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2015). Semua jenis kanker ditandai dengan pertumbuhan sel kanker yang tak terkendali dan memiliki kemampuan menyerang jaringan lokal dan metastase atau menyebar ke bagian tubuh yang lain (Dipiro *et al.*, 2016). Pengobatan kanker dengan kombinasi antara kemoterapi dan kemoprevensi yang bersifat non toksik dapat meningkatkan sensitivitas sel kanker dan menurunkan toksisitas terhadap sel normal (Jenie nd Meiyanto, 2007). Idealnya secara klinik, obat yang dikombinasi lebih efisien dibandingkan agen yang tunggal karena memiliki efek sinergis melawan sel kanker dan toksisitas dapat ditoleransi (CCRC, 2009). Nilai CI (*Combination Index*) adalah pengukuran standar efek kombinasi yang menunjukkan efek yang lebih besar ( $CI < 1$ ), kurang ( $CI > 1$ ) dan efek yang sama ( $CI = 1$ ) (Fouquier and Guedj, 2015). Kombinasi ekstrak herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dan 5-fluorourasil memiliki efek sinergis kuat pada sel T47D (Novitasari, 2016).

Fluorourasil merupakan salah satu agen kemoterapi yang digunakan untuk pengobatan kanker payudara (Dipiro *et al.*, 2008). Senyawa 5-Fluorourasil adalah analog pirimidin dan merupakan antimetabolit antineoplastik yang memblok timidilat sintase yang mengkonversi asam deoksiuridilat menjadi asam timidilat sehingga sintesis DNA terganggu (Pubchem, 2005). Diketahui  $IC_{50}$  5-Fluorourasil pada sel kanker T47D sebesar 2,975  $\mu\text{g/mL}$  (Novitasari, 2016).

Beberapa agen kemoprevensi berasal dari bahan alam (Aggarwal *et al.*, 2004). Salah satunya adalah Ashitaba (*Angelica keiskei*). Tanaman Ashitaba merupakan herbal asia dari golongan keluarga seledri. Santoangelol, santoangelol-E, 4-hidroksiderisin adalah kalkon yang berada di dalam Ashitaba. Senyawa kalkon memiliki berbagai aktivitas, seperti antiinflamasi, antibakteri, analgesik, antileismanial, antiplatelet, antikanker, dan antioksidan (Chavan *et al.*, 2016). Pengobatan sel dengan kalkon dapat menurunkan viabilitas sel kemudian sel mengalami nekrosis dengan cepat atau mengaktifkan apoptosis. Namun, hampir tidak ada penelitian terkait proses dan cara kematian sel lebih lanjut yang disebabkan oleh kalkon (Zhang *et al.*, 2013). Nilai IC<sub>50</sub> santoangelol dan 4-hidroksiderisin pada sel HL-60 adalah  $5,9 \pm 0,5$  dan  $5,5 \pm 0,3$   $\mu\text{M}$  (Akihisa *et al.*, 2012). Hasil penelitian tersebut menjadi dasar untuk melakukan penelitian tentang sitoksisitas kombinasi ekstrak etanol daun Ashitaba dengan 5-Fluorourasil terhadap sel kanker T47D.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, maka rumusan masalah dari penelitian ini, antara lain:

1. Berapa nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol daun Ashitaba terhadap sel kanker T47D?
2. Berapa nilai CI kombinasi ekstrak etanol daun Ashitaba dengan 5-Fluorourasil terhadap sel kanker T47D?

## **C. Tujuan Penelitian**

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, maka tujuan dari penelitian ini, antara lain:

1. Mengetahui IC<sub>50</sub> ekstrak etanol daun Ashitaba terhadap sel kanker T47D.
2. Mengetahui CI kombinasi ekstrak etanol daun Ashitaba dengan 5-Fluorourasil terhadap sel kanker T47D.

## D. Tinjauan Pustaka

### 1. Tanaman Ashitaba (*Angelica keiskei*)

#### a. Klasifikasi tanaman

Kingdom : Plantae

Phylum : Tracheophyta

Class : Magnoliopsida

Ordo : Apiales

Family : Apiaceae

Genus : *Angelica*

Spesies : *Angelica keiskei* (Global Biodiversity Information Facility, 2017).

#### b. Kandungan tanaman

Ashitaba atau *Angelica keiskei* mengandung beragam komponen bioaktif termasuk kalkon berpenilasi, kumarin, dan flavanon (Caesar and Cech, 2016).

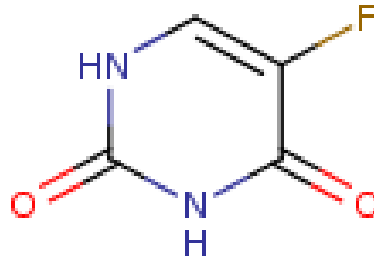
#### c. Aktivitas Biologi

Ashitaba memiliki aktivitas sitotoksik, antidiabetes, antiinflamasi, antihipertensi, dan antimikroba (Caesar and Cech, 2016).

### 2. 5-Fluorourasil

#### a. Mekanisme

5-fluorourasil adalah antimetabolit yang secara antagonis bekerja dengan timin terhadap aktivitas timidilat sintase (TS). 5-fluorourasil merupakan prodrug, dimana 5-fluorourasil dimetabolisme menjadi fluoridin-5-trifosfat (FUTP) yang mempengaruhi fungsi RNA dengan bergabung ke dalamnya, fluorodeoksiuridin trifosfat (FdUTP) dan fluorodeoksiuridilat (FdUMP) yang dapat menghambat replikasi DNA (CCRC, 2014). Berikut struktur 5-fluorourasil (Gambar 1):



**Gambar 1. Struktur 5-fluorourasil**

**b. Indikasi**

Fluorourasil diindikasikan untuk pengobatan karsinoma kolon, payudara, pankreas, kepala dan leher, perut, atau rektum. Penggunaan topikal untuk keratosis aktinik atau solar dan karsinoma sel basal superfisial (Lacy *et al.*, 2009).

**c. Efek Samping**

Sindrom eritrodisestesia palmar-plantar (*hand-foot*) dan terjadi toksisitas yang ditandai dengan diare, muntah, penurunan jumlah leukosit dan trombosit, perdarahan, iskemia miokard, atau stomatitis (Lacy *et al.*, 2009).

**d. Kontraindikasi**

Kehamilan, kekurangan enzim dihidropirimidin dehidrogenase (DPD), dan hipersensitivitas terhadap fluorourasil merupakan kontraindikasi dari fluorourasil (Lacy *et al.*, 2009).

**3. Kanker**

Kanker adalah penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan dan penyebaran secara tidak terkontrol dari sel abnormal. Umumnya metastasis tumor memiliki efek yang lebih besar ke tempat yang jauh daripada tumor primer pada frekuensi komplikasi, kualitas hidup, dan mortalitas pasien (Alldredge *et al.*, 2013). Kanker yang paling umum terjadi yaitu kanker prostat, kanker payudara, kanker paru-paru, dan kanker kolorektal (Dipiro *et al.*, 2008).

Histologi kanker payudara yang paling umum adalah karsinoma duktal dan lobular. Tumor duktal diklasifikasikan sebagai karsinoma duktal in situ (DCIS) atau karsinoma duktal invasif jika telah menyerang melalui membrane basal duktus.

Tumor lobular dikasifikasikan juga sebagai karsinoma lobular invasif atau karsinoma lobular in situ (LCIS). Jenis kelamin dan usia merupakan faktor resiko kanker payudara yang paling umum (Alldredge *et al.*, 2013).

#### 4. Sel T47D

Sel T47D merupakan *continous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita yang usianya 54 tahun dan sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya, memiliki homegenitas yang tinggi, kemampuan replikasi yang tidak terbatas, serta jika terjadi kontaminasi mudah diganti dengan *frozen stock*. Morfologi sel T47D seperti sel epitel. Sel kanker payudara T47D mengekspresikan protein p53 yang termutasi yang *missence mutation* terjadi pada residu 194 sehingga respon elemen pada DNA tidak dapat berikatan dengan p53 dan menyebabkan berkurang bahkan hilangnya kemampuan p53 untuk regulasi siklus sel. Sel T47D merupakan sel kanker payudara ER/PR-positif dan ketika diinduksi estrogen eksogen maka terjadi peningkatan proliferasinya (CCRC, 2014).

#### 5. MTT assay

Metode MTT adalah salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui jumlah sel kanker setelah diberi perlakuan. Prinsip dari metode MTT adalah terjadinya reduksi oleh sistem reduktase terhadap garam kuning tetrazolium MTT. Kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air dibentuk oleh suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel hidup. Kristal berwarna tersebut akan dilarutkan dengan penambahan reagen stopper (bersifat detergenik) yaitu larutan SDS dalam HCl, kemudian diukur absorbansinya dengan ELISA reader. Jika intensitas warna ungu semakin besar maka jumlah sel hidup semakin banyak karena intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup (CCRC, 2009).

### E. Landasan Teori

Ashitaba mengandung sekitar 20 jenis kalkon di mana kalkon yang utama adalah santoangelol (XA) dan 4-hidroksiderisin (4HD) (Enoki *et al.*, 2010). Kalkon dan derivatnya memiliki aktivitas antikanker yang poten (Chavan *et al.*, 2016). Diketahui  $IC_{50}$  4-hidroksiderisin dan santoangelol pada sel HL-60 adalah  $5,5 \pm 0,3$  dan  $5,9 \pm 0,5 \mu M$  (Akihisa *et al.*, 2012). Santoangelol dapat menghambat sintesis DNA sel LLC dan tumor yang diinduksi neovaskularisasi (Kimura *et al.*, 2003) sedangkan 4-hidroksiderisin menghambat pengurangan sistem kekebalan tubuh dan tumor yang dapat menginduksi angiogenesis (Kimura *et al.*, 2004). Senyawa 5-Fluorourasil merupakan salah satu agen kemoterapi yang digunakan dalam pengobatan kanker payudara (Dipiro *et al.*, 2008). Senyawa 5-Fluorourasil memiliki  $IC_{50}$  pada sel kanker T47D sebesar  $2,975 \mu g/mL$  (Novitasari, 2016).

### F. Hipotesis

Kombinasi ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) dengan 5-Fluorourasil memiliki aktivitas sitotoksik yang sinergis terhadap sel kanker T47D.